

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA FLORE ANAÉROBIE
DE L'ESTOMAC

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Mercredi 13 Novembre 1907 à 1 heure

PAR

HENRI MINOT

Ancien externe des Hôpitaux de Paris

Président	M. ROGER, professeur.
Juges.	MM. PINARD, professeur.
	BRISAUD, professeur.
	COUVELAIRE, agrégé.

*Le candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les
diverses parties de l'enseignement médical.*

PARIS
G. JACQUES, ÉDITEUR
14, RUE HAUTEFEUILLE, 14

1907

17

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA FLORE ANAÉROBIE
DE L'ESTOMAC

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen Professeurs		M. DEBOVE MM
Anatomie		NICOLAS
Physiologie		CH. RICHET
Physique médicale		GARIEL
Chimie organique et chimie minérale		A. GAUTIER
Parasitologie et Histoire naturelle médicale		BLANCHARD
Pathologie et thérapeutique générales		BOUCHARD
Pathologie médicale		DEJERINE
Pathologie chirurgicale		BRISSAUD
Anatomie pathologique		LANNELONGUE
Histologie		CORNIL
Opérations et appareils		PRENANT
Pharmacologie et matière médicale		QUÉNU
Thérapeutique		G. POUCHET
Hygiène		GILBERT
Médecine légale		CHANTEMESSE
Histoire de la médecine et de la chirurgie		THOINOT
Pathologie comparée et expérimentale		Gilbert BALLET
		ROGER
		DEBOVE
Clinique médicale		LANDOUZY
		HAYEM
		DIEULAFOY
Clinique des maladies des enfants		HUTINEL
Clinique des maladies syphilitiques		GAUCHER
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale		
Clinique des maladies du système nerveux		JOFFROY
		RAYMOND
		LE DENTU
Clinique chirurgicale		SEGOND
		BERGER
		RECLUS
Clinique ophthalmologique		DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires		ALBARRAN
Clinique d'accouchements		PINARD
		BAR
Clinique gynécologique		POZZI
Clinique chirurgicale infantile		KIRMISSON
Clinique thérapeutique		ALBERT ROBIN
Agrégés en exercice		
MM.	COUVELAIRE	LANGLOIS
AUVRAY	CUNEO	LAUNOIS
BALTHAZARD	DEMELIN	LECÈNE
BRANCA	DESGREZ	LEGRY
BEZANÇON	DUVAL	LENORMANT
BRINDEAU	GOSSET	LÉPER
BROCA ANDRÉ	GOUGET	MACAIGNE
BRUMPT	JEANNIN	MAILLARD
CARNOT	JEANSELME	MARION
CASTAIGNE	JOUSSET	MORESTIN
CLAUDE	LABBÉ	MULON
		NICLOUX
		NOBECOURT
		OMBREDANNE
		POTOCKI
		PROUST
		RENON
		RICHAUD
		RIEFFEL, chef des trav. anat.
		SICARD
		ZIMMERN

Chef des travaux anatomiques : M. RIEFFEL, agrégé

Par délibération en date du 9 déc. 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA FLORE ANAÉROBIE DE L'ESTOMAC

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Mercredi 13 Novembre 1907 à 1 heure

PAR

HENRI MINOT

Ancien externe des Hôpitaux de Paris



Président	M. ROGER, professeur.
Juges.	MM. PINARD, professeur.
	BRISAUD, professeur.
	COUVELAIRE, agrégé.

*Le candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les
diverses parties de l'enseignement médical.*

PARIS
G. JACQUES, ÉDITEUR
14, RUE HAUTEFEUILLE, 14

1907

*Je dédie ces quelques pages à M. le Professeur ROGER
en témoignage de la reconnaissance que je lui ai pour
m'avoir initié aux méthodes de la médecine expérimentale.*

AVANT-PROPOS

Je suis heureux de l'occasion qui m'est offerte ici de remercier les maîtres à qui je dois mon instruction médicale.

A mon début dans les fonctions d'externe, M. Baudet fut pour moi un jeune maître plein de bienveillance et de cordialité. Je n'ai pas oublié ses causeries au lit du malade, dans lesquelles il faisait de la pathologie une science simple et pleine d'attrait. Cet attrait, la parfaite clarté de l'exposition aurait suffi à l'expliquer, mais il était inséparable pour nous de la sympathie qu'avait su nous inspirer la personne du conférencier.

A M. Thibierge, j'ai dû de pénétrer dans le domaine si vaste et si intéressant de la dermatologie à la suite d'un des maîtres qui le connaissent le mieux : je lui dois quelque chose de plus précieux encore, l'exemple de la plus parfaite dignité et ces excellents préceptes de conduite, tels qu'en peut donner un maître à la sagacité de qui s'offrent sans cesse les plus délicats problèmes moraux.

De l'année passée avec M. Legendre, je garde le souvenir d'un enseignement plein de charme : à l'école de ce clinicien consommé j'appris combien est attrayante la médecine lorsque pour sa pratique s'unissent dans une même personne, à une science étendue de la pathologie et de la thérapeutique, la politesse, le tact, une exquise bonté.

Mon dernier maître, M. le Professeur Roger, en m'admettant dans son laboratoire de la Faculté et en m'initiant aux méthodes de la science expérimentale, m'a permis de réaliser

le vœu longtemps caressé de ma jeunesse ; je considère comme une chance enviable d'avoir eu pour initiateur un tel maître, en qui la science ne se sépare pas de la plus haute culture de l'esprit et qui appartient à la belle lignée française des savants philosophes et lettrés. C'est à lui que je dois et l'idée du présent travail et les moyens de l'exécuter. Qu'il veuille bien accepter mes vifs remerciements.

Je remercie aussi, pour les précieux conseils qu'ils m'ont donnés, MM. Josué et Garnier. Je n'aurai garde d'oublier non plus M. Sartory mon ami et mon jeune maître, à l'obligeance de qui j'ai pu avoir si souvent recours sans la trouver jamais lassée.

Que mon vieil ami Nandrot prenne aussi sa part de remerciements pour les innombrables services qu'il m'a rendus au cours de ses quatre années d'internat. A son nom je joins dans mon souvenir reconnaissant les noms de ses anciens collègues MM. Genévrier et Bloch, dont la parfaite aménité pour moi ne s'est jamais démentie.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR LA FLORE GASTRIQUE

Au début de toute recherche sur les microbes de l'estomac une question se pose : Existe-t-il une flore gastrique ? D'innombrables microbes, certes, pullulent dans l'estomac, mais comment distinguer des hôtes habituels les microbes introduits accidentellement avec tel ou tel aliment ou déglutis avec la salive ? Bien plus, n'y a-t-il pas des microbes qui introduits accidentellement, sont capables de s'acclimater et de vivre désormais dans l'estomac ? S'il en est ainsi, quelle variabilité doit présenter la flore gastrique, suivant les pays, suivant les saisons, suivant les individus !

Les recherches sur ce sujet sont destinées à se heurter sans cesse à cette objection : néanmoins nous avons cru pouvoir entreprendre un tel travail avec quelque profit pour la science : c'est en effet quand de très nombreuses listes de microbes auront été dressées par les divers chercheurs que, comparant les résultats obtenus, on pourra faire une sélection entre les microbes vivant d'une manière constante dans l'estomac et ceux qui ne font que le traverser.

La liste des microbes de l'estomac est déjà d'une respectable longueur. Telle que l'établit notre maître le Professeur Roger dans son livre *Alimentation et digestion*, résumant les données fournies par les principaux bactériologues, elle comprend plus de 70 espèces.

La plupart de ces microbes sont des aérobies et jusqu'à présent l'attention des chercheurs ne s'est pas portée d'une façon systématique sur les anaérobies de l'estomac. Dans sa

thèse sur la Flore de l'estomac, soutenue en 1900, Coyon (1) déclare en termes exprès qu'il ne s'est pas occupé des anaérobies. Plusieurs espèces de microbes anaérobies de l'estomac sont cependant déjà connues. Dans son livre précité, le Professeur Roger les énumère.

Il cite d'abord les cinq espèces microbiennes décrites par Miller. Le bacillus aerogenes, le bacterium aerogenes I, le bacterium aerogenes II, l'hélico-bactérium aerogenes, le micrococcus aerogenes. — Puis le bacillus lactis aerogenes, le bacillus amylobacter, le bacillus gracilis ethylogenes décrit par Achalme et Rosenthal.

Parmi ces diverses espèces, une mention spéciale doit être réservée au bacillus amylobacter. Ce bacille possède la propriété de s'attaquer à la cellulose. Or on sait qu'aucun des ferments digestifs n'a d'action sur cet hydrate de carbone.

Enfin, sous la direction du Professeur Roger, et dans son laboratoire, M. Thaon a étudié une race du Bacillus perfringens obtenue en semant un vomissement d'hyperchlorhydrique où elle existait à l'état de pureté. — M. Sartory a découvert dans l'estomac des hyperchlorhydriques une levure chromogène que le Professeur Roger a retrouvée depuis dans l'estomac du chien et qu'en considération de ses caractères morphologiques M. Sartory a nommée Cryptococcus salmoneus.

Les anaérobies de l'estomac ont donc été déjà l'objet de plusieurs travaux fait sous l'inspiration du Professeur Roger : c'est qu'en effet l'étude de ces êtres microscopiques est du plus haut intérêt pour ceux qui, comme notre maître, cherchent à éclairer la pathologie par la connaissance des phénomènes bio-chimiques dont l'organisme humain est le siège.

Dans cet ordre de phénomènes, l'action des microbes anaérobies est de la plus haute importance. Les modifications que

1. Coyon. *La Flore microbienne de l'estomac*. Thèse de Paris, 1900.

les aliments subissent dans l'estomac lui sont dues en partie et cette action qui est, quelquefois favorable, est la plupart du temps l'origine de manifestations pathologiques.

L'action des ferments bactériens est en effet plus complète que celle des ferments digestifs. C'est ainsi que « les sucres, glycose, lactose et saccharose sont attaqués et donnent de petites quantités d'alcool éthylique et méthylique, d'aldéhyde, d'acétone et des quantités considérables d'acides : acide acétique, lactique, butyrique, acétyl acétique, succinique, formique. En même temps se dégagent des gaz CO^2 , CH_4 , C_2H_4 , C_2H_2 ».

Si l'on étudie l'action des bactéries sur les albuminoïdes, on voit que le premier phénomène consiste en une hydratation, puis apparaissent des acides gras, acide lactique, propionique, butyrique, valérianique, des acides amidés, notamment de la tyrosine, des composés aromatiques, indol et phénol, de l'ammoniaque, de la triméthylamine, des ptomaines, enfin des gaz et particulièrement CO^2 et H^2S (1).

Or il n'est pas douteux que dans de telles transformations l'action des anaérobies ne l'emporte sur celle des aérobies.

Seuls les anaérobies sont capables de produire une telle dislocation de la molécule.

Aussi est-il intéressant de connaître ces microbes, d'isoler leurs espèces, d'étudier *in vitro* leurs actions chimiques, enfin de déterminer ceux d'entre eux qui peuvent devenir pathogènes.

C'est une étude de ce genre que nous avons poursuivie dans le laboratoire du professeur Roger, inspiré par lui et guidé par ses conseils.

*
**

Grâce à ces conseils, nous avons réussi à isoler trois organismes :

1. Roger, *Alimentation et Digestion*. Paris, 1907, p. 285 et 286.

1° Un bacille, que nous proposons d'appeler *bacillus punctillatus*.

2° Un microbe de petites dimensions, présentant un certain polymorphisme.

3° Une levure.

C'est l'étude de ces trois espèces qui fait l'objet du présent travail.

Avant d'entamer cette étude détaillée nous devons dire quelques mots de la méthode que nous avons suivie pour les obtenir, pour les isoler, et pour les cultiver.

*
* *

Méthode suivie. — Sur le conseil de notre maître nous avons commencé notre recherche en semant des vomissements en milieu privé d'air.

Un tube rempli de gélose sucrée jusqu'aux deux tiers de sa hauteur est chauffé au bain-marie et laissé à la température de l'ébullition jusqu'à ce qu'il ne contienne plus aucune bulle d'air. Nous le laissons refroidir un peu et dans la masse encore liquide nous introduisons quelques parcelles de matière vomie, nous la diluons rapidement en agitant avec la pipette puis nous refroidissons rapidement le tube en le plongeant dans l'eau froide.

De cette manière, on obtient à la surface une culture aérobie et dans les parties profondes du tube se développent les colonies anaérobies.

Pour en faire l'examen et pour les réensemencer, il est nécessaire de briser le tube au niveau de l'endroit où elles pullulent. Pour cela, il suffit de tracer un trait avec le couteau à verre et d'appliquer sur ce trait un bâton de verre chauffé au rouge.

Les espèces reconnues, il faut les isoler. La difficulté est plus grande qu'avec les aérobies. Nous avons employé le pro-

cédé qui nous a paru le plus simple, celui des dilutions successives en gélose profonde. Un tube 1 est ensemencé avec une culture initiale : puis un tube 2 avec un peu de la gélose encore liquide du tube 1. Un tube 3 avec le tube 2. Dans le dernier tube la dilution des germes est assez grande : en refroidissant rapidement la masse, on peut arriver à avoir des colonies isolées les unes des autres. On prélève, en brisant le tube, un peu de chacune d'elles et on a ainsi des cultures pures.

Pour faire à l'abri de l'air les cultures sur les différents milieux, nous nous sommes servi de l'appareil de Novy, qu'on remplit d'hydrogène après y avoir fait le vide par la trompe à eau. Nous nous sommes servi aussi de tubes de bouillon recouverts d'une couche d'huile de 1 à 2 cm. d'épaisseur. C'est en suivant cette méthode que nous avons isolé puis cultivé les trois microorganismes précités.

Nous allons dire maintenant ce que nos recherches nous ont appris sur la morphologie et sur la biologie de chacun d'eux.

LE BACILLUS PUNCTILLATUS

Ce bacille existait en notable quantité dans les vomissements d'une femme alcoolique, atteinte de gastrite chronique et dont les vomissements avaient une forte odeur butyrique.

Nous avons poursuivi son isolement par la méthode indiquée plus haut de dilutions successives en gélose glycosée, mais une circonstance fortuite nous permit de l'isoler plus rapidement.

Ayant à notre disposition du sang de lapin défibriné préparé pour cultiver du pneumocoque suivant la méthode de MM. Gilbert et Fournier, nous tentâmes un ensemencement de notre microbe sur ce milieu. Nous enfermâmes le tube dans l'appareil à hydrogène et nous mîmes le tout dans l'étuve.

Quarante-huit heures après nous voyions sur la surface du sang une petite trainée jaune verdâtre : examinée au microscope, une parcelle de cet enduit se montra composée d'un très grand nombre de bacilles semés, sans aucune impureté.

C'est de cette culture que nous sommes parti pour ensemen-
cer les divers milieux solides et liquides sur lesquels nous voulions étudier le développement de ce bacille.

Nous pûmes ainsi étudier sa morphologie, sa biologie et son rôle pathogène.

Morphologie. — Examinée au microscope après coloration par le bleu de Löffler, une préparation du bacillus punctillatus se présente comme un assemblage de très nombreux bâtonnets, assez allongés, tantôt réunis bout à bout et formant

ainsi de longs filaments, tantôt disposés sur plusieurs rangées



Fig. 1.

parallèles séparées par un étroit intervalle, tantôt disposés sans ordre aucun, s'entrecroisant dans toutes les directions et formant un feutrage épais dans les endroits où la préparation est mal étalée.

Chaque élément, quand il a atteint son plein développement, mesure de 5 à 6 μ de long sur 1 μ environ de large. Dans les préparations faites avec une culture récente, il n'est pas rare d'observer des chaînes de bacilles qui en s'ajoutant bout à bout arrivent à former des filaments de 40 μ et même 50 μ .

À côté, des éléments récemment formés, à peine plus longs que larges, pourraient, à première vue, être pris pour les spécimens d'une autre espèce microbienne. Un examen attentif décèle leur provenance. Si en effet on examine, entre lame et lamelle, une goutte de culture sur bouillon, et qu'on suive avec persistance les évolutions passives (1) des bacilles au

1. Comme nous le disons plus loin, le bacille est dépourvu de tout mouvement spontané.

sein du liquide, on ne tarde pas à voir l'extrémité de certains d'entre eux se segmenter, une petite masse carrée se séparer et s'en aller flotter au sein du liquide. Ce sont ces formes jeunes qui répandues en abondance dans les cultures récentes, stimulent dans certains cas une impureté.

Dans d'autres cas, le jeune bacille reste accolé à celui dont il vient de se séparer et il amorce ainsi la formation d'une chaîne.

A côté des formes franchement bacillaires, qui de beaucoup sont les plus nombreuses, quelques éléments, un peu renflés à une de leurs extrémités, peuvent être nommés formes en massue.

Granulations. — Le détail le plus intéressant de la mor-



Fig. 2.

phologie du bacillus punctillatus, c'est qu'il contient fréquemment des granulations. Sur une préparation colorée au bleu

de Löffler, ces granulations se détachent en bleu très foncé, presque noir, sur le bleu franc des autres parties du microbe.

Les bacilles d'une préparation ne contiennent pas tous de ces grains. Il semble que les éléments très jeunes n'en aient pas encore et qu'ils disparaissent sur les éléments âgés.

Chaque bâtonnet en possède 3 ou 4. Tantôt leur diamètre est supérieur à la largeur du bacille, on dirait alors une tige avec des nœuds.

Dans d'autres cas le bacille est plus large, les granulations sont entièrement incluses dans son épaisseur. Quelques éléments, peu colorés, sauf au niveau de leurs granulations, ont presque perdu leur aspect bactérien. Sur le fond clair où ils se détachent, ils ressemblent au trait mal homogène que laisse une plume sur du papier gras. On est porté à se demander, en voyant de telles formes, si le bacille n'appartient pas à une classe d'êtres intermédiaires entre les bactéries et les mucorinées.

Culture en goutte pendante. — Pour élucider ce point nous avons cherché à observer la production de mycélium et pour cela nous avons cultivé le bacille en goutte pendante. Pendant 13 jours nous avons suivi l'évolution de cette culture. Jamais nous n'avons observé une seule bifurcation latérale. Les bacilles, il est vrai, arrivèrent à former un véritable feutrage, mais en examinant les bords de la colonie, là où le fourmillement était moins considérable, on pouvait voir que cet aspect feutré était dû uniquement à l'entrecroisement des bacilles, et qu'il n'existait pas de mycélium.

Nature des grains. — Ces grains qui donnent au bacille un aspect si spécial, par quoi sont-ils constitués ?

Ce ne sont pas des spores : les spores en effet, outre qu'elles ont un aspect différent, se reconnaissent à ce qu'elles sont la partie des microbes qui prend le moins les colorants. Les grains du bacillus sont au contraire les parties qui se colorent le plus énergiquement.

Ce ne sont pas non plus des globules de graisse : traités par le Scharlach R qui colore la graisse en rouge, ils restent incolores.

Ils ne sont pas formés de glycogène, ni d'amidon : la liqueur iodo-iodurée ne les colorant ni en brun acajou, ni en bleu.

Nous nous sommes demandés si c'étaient là des grains métachromatiques, analogues à ceux du bacille diphtérique, et nous avons traité notre bacille par le liquide de Crouch, qui permet de les déceler.

Ce liquide dont la composition est la suivante :

Vert de méthyle à 1 p. 100 . . .	5 parties
Violet dahlia à 1 p. 100. . . :	1 »
Eau	4 »

colore les grains métachromatiques en rouge rubis. Les grains du bacillus punctillatus se sont au contraire colorés en violet foncé alors que le reste du microbe se colorait en violet pâle.

Il ne semble donc pas que ces grains soient autre chose que des condensations du protoplasma bactérien.

Mobilité. — Le bacillus punctillatus n'est doué d'aucun mouvement. Qu'on l'observe un certain temps entre lame et lamelle, on ne constatera que des mouvements passifs dus aux courants du liquide. Son immobilité est absolue, autant qu'on en puisse juger par nos moyens d'investigation.

Colorants. — Ce bacille se colore bien par tous les colorants usuels des microbes. On obtient en particulier de belles préparations avec le bleu de Löffler qui met bien en évidence ses grains.

Sur une préparation bien réussie le corps du bacille est coloré en bleu clair et les grains en bleu très foncé, presque noir.

Gram. — Le bacille ne se décolore pas par la méthode de Gram.

Etude biologique.

Optimum de température. — Le bacille se développe à toutes les températures comprises entre 20 et 43°.

A 20° il croît, mais non d'une façon constante.

A 43° il donne encore des colories, mais les éléments en sont grêles, peu nombreux et ils prennent mal les colorants.

L'optimum de température semble être aux environs de 37°. A cette température, le bacille ponctillé, semé sur bouillon sucré donne au bout de 24 heures une abondante culture.

Vitalité du bacille. — Le bacille est doué d'une assez grande vitalité.

Une culture sur bouillon glycosé était encore capable de se reproduire au bout de 45 jours passés dans l'étuve à 37°.

Action de la chaleur humide. — Le bacillus punctillatus reste vivant après avoir été porté à 100° pendant une seconde dans la vapeur d'eau.

Il ne résiste pas plus de 10 minutes à une température de 60°.

Une minute de chauffage à 100° suffit à le tuer.

Action de l'air. — Le bacille ponctillé se développe bien surtout à l'abri de l'air, mais ce n'est pas un anaérobie strict. Il croît facilement en tubes de bouillon laissés dans l'atmosphère de l'étuve : il croît quoique faiblement, même en surface, sur milieux solides exposés à l'air.

Il ne croît pas à la surface du bouillon.

Par ces caractères il se rapproche du bacille tétanique qui lui aussi est un anaérobie capable au besoin de végéter au contact de l'oxygène.

Toutefois, pour cultiver notre bacille sur milieux solides, nous avons toujours eu recours à l'appareil à hydrogène. Pour les cultures en bouillon, nous recouvrons d'huile la surface du bouillon.

Culture sur milieux solides. — *Gélatine.* — Nous n'avons pas pu cultiver le bacillus punctillatus sur bouillon solidifié par la gélatine. Il croit au contraire facilement sur la gélatine additionnée d'une petite quantité de glucose.

Toutefois, même après avoir fait cette addition, nous n'avons pas obtenu de culture dans les tubes laissés à une température inférieure à celle de la liquéfaction de la gélatine. C'est dire que nous n'avons pu l'obtenir de culture en surface sur gélatine inclinée.

Semé en piqûre sur gélatine glycosée, il donne une colonie blanc-jaune qui se répand en profondeur.

Il ne liquéfie pas la gélatine. Si en effet on ensemence un tube de gélatine glycosée avec une culture du bacille, qu'on laisse se développer à l'étuve, puis qu'on le mette ensuite à une température inférieure à 20°, la gélatine se resolidifie.

Sur gélose profonde. — En gélose profonde le bacille ponctillé donne des colonies ayant l'aspect de longues traînées blanc jaunâtre. Ça et là se produisent quelques éclatements qui témoignent de la production d'une certaine quantité de gaz. Ces éclatements ne sont jamais bien considérables et ne sont en tous cas aucunement comparables à ceux que produisent certains autres anaérobies notamment le b., perfringens.

Sur gélose inclinée. — Semé sur la surface inclinée de la gelose et mis à l'étuve dans l'appareil de Nory rempli d'hydrogène, le bacillus punctillatus donne au bout de 48 heures des colonies peu abondantes qu'on ne voit bien qu'à jour frisant, ce sont des traînées ou un semis transparent, ne se distinguant guère par leur couleur du milieu nutritif.

Les microbes poussés ainsi en surface sur gélose sont assez rabougris.

Sur pomme de terre. — L'ensemencement sur pomme de terre ne réussit qu'environ une fois sur deux. Les cultures sont

très peu abondantes, très difficiles à voir et formées de bacilles très grêles.

Sur pomme de terre glycéroinée les résultats ne sont pas meilleurs.

Sur pomme de terre acide nous n'avons pas obtenu de culture.

Culture sur carotte. — Sur carotte au contraire, le bacille poncillé pousse avec une extrême abondance. Les colonies quasi incolores, transparentes, sont peu visibles. Mais si on prélève une parcelle de ces élevures qui à première vue pourraient être prises pour des gouttes de liquide, on constate à l'examen microscopique qu'elles sont formées d'un nombre considérable de bacilles dont certains atteignent de très fortes dimensions. C'est sur ce milieu que nous avons obtenu certaines des formes les plus typiques du bacille.



Fig. 3.

Culture sur artichaut. — Ce bacille se développe bien sur l'artichaut. Comme sur carotte et sur pomme de terre, il donne des colonies transparentes, peu visibles. Ces colonies sont assez abondantes : les bacilles qui les constituent n'ont rien d'anormal.

Point à noter parce qu'il peut servir de caractère distinctif, le bacille ne donne pas sur artichaut de pigment vert.

Culture sur sang défibriné. — Deux fois nous avons pu faire croître le bacillus punctillatus sur sang de lapin défibriné. C'est même par passage sur ce milieu, ainsi que nous l'avons dit plus haut, que nous avons réussi à l'isoler.

La colonie que nous avons ainsi obtenue était les deux fois très peu abondante : c'était une petite trainée de quelques millimètres de longueur, d'une couleur jaune verdâtre, un peu surelevée au-dessus de la surface du sang et se propageant d'autre part sur 1 millimètre environ en profondeur, rappelant ainsi tout à fait par sa couleur et par sa disposition les cultures du pneumocoque sur le même milieu. Les cultures du pneumocoque toutefois sont beaucoup plus abondantes, et d'un jaune plus franc. Les bacilles qui constituaient cette culture sur sang n'étaient en rien différents de ceux développés sur d'autres milieux.

Culture sur milieux liquides : et recherche de certains produits de fermentation. — L'étude des anaérobies du tube digestif est intéressante surtout par les renseignements qu'elle peut nous fournir sur les fermentations qui à l'état pathologique et même à l'état physiologique se produisent dans les cavités digestives.

Nous avons recherché l'action du bacillus punctillatus sur les peptones, sur les nitrates, sur l'urée, sur les certains sucres, sur l'empois d'amidon.

Nous rapportons, dans les pages qui suivent, les résultats de ces expériences en notant en même temps les particularités intéressantes au point de vue morphologique que peuvent présenter les différentes cultures.

Culture sur bouillon de viande. — Le bacille ponctillé aime surtout les liquides sucrés. Néanmoins il croît sur bouillon de viande pur, mais les cultures sont peu riches et les

bacilles qu'elles renferment sont de petites dimensions : elles se développent en 24 heures.

Culture sur eau peptonée. — Malgré nos tentatives répétées, malgré toutes les précautions prises pour que notre appareil à hydrogène ne contint pas la moindre trace d'air, nous n'avons pu réussir à cultiver le bacille dans l'eau peptonée pure.

Nous n'avons donc pu faire dans de bonnes conditions la recherche chimique de l'indol.

En effet, pour que cette recherche se fasse dans de bonnes conditions, il faut que l'eau peptonée ne soit additionnée d'aucune substance : la présence de sucre surtout est nuisible. Or c'est de sucre surtout que le bacille est avide.

Nous avons essayé de le cultiver sur eau peptonée additionnée en petite quantité de glycérine ; ce milieu qui convient à certains microbes, n'a pas été favorable au nôtre.

Au contraire il s'est très bien développé sur eau peptonée glycosée et il s'est développé, quoique plus faiblement, sur eau peptonée additionnée de nitrate de potasse. La croissance sur ce dernier milieu nous a permis de rechercher son action sur les nitrates.

Action du bacillus punctillatus sur les nitrates. — A 10 cc. d'eau peptonée nous ajoutons 0 gr. 20 de nitrate de potasse chimiquement pur. La solution est stérilisée à l'autoclave,ensemencée, et mise à l'étuve dans l'appareil de Novy rempli d'hydrogène. Quelques jours après il existe un trouble et l'examen microscopique révèle l'existence d'un certain nombre de bacilles.

Pour rechercher les nitrites nous employons le procédé de la brucine.

Quelques gouttes du liquide à étudier sont déposées sur une assiette blanche : on y ajoute un fragment de brucine puis quelques gouttes d'acide chlorhydrique pur : il se pro-

duit une coloration rouge intense révélatrice de l'acide nitreux.

Une partie du nitrate de potasse a donc été modifiée et transformée en nitrite.

Recherche de l'indol. — Ne pouvant faire la recherche de l'indol dans l'eau peptonée pure, force nous fut de faire cette recherche dans l'eau peptonée nitratée.

Nous avons opéré, comme on doit le faire, sur une culture ancienne de 5 jours.

A 10 centimètres cubes de la culture, nous ajoutons 5 cent. cubes d'une solution de nitrite de potasse à 2 pour cent, puis 4 ou 5 gouttes d'acide sulfurique. Il ne se produit aucune coloration. Nous ajoutons un peu d'alcool amylique, nous retournons plusieurs fois de suite le tube, sans agiter de peur d'émulsionner, puis nous laissons reposer. L'alcool amylique vient surnager à la surface du tube : il ne présente aucune coloration.

La réaction de l'indol est négative.

Il semble résulter des expériences précédentes que le bacille ponctillé n'attaque pas les peptones. Nous avons cherché s'il attaquait l'urée et s'il opérait la transformation de cette substance en carbonate d'ammoniaque.

Culture sur eau peptonée additionnée d'urée. — A 10 cmc. d'eau peptonée nous ajoutons 0 gr. 2 d'urée. L'urée se décomposant à la température de 120°, la stérilisation est obtenue en filtrant la solution sur bougie de porcelaine. Le milieu ainsi obtenu estensemencé et mis à l'étuve : après plusieurs jours, il était resté stérile. Le bacille ne s'était pas développé sur l'eau peptonée additionnée d'urée.

Nous avons recommencé en dissolvant l'urée dans du bouillon de viande. Cette fois nous avons obtenu une culture dans laquelle nous avons recherché le carbonate d'ammoniaque.

A quelques cmc. du liquide à analyser nous ajoutons goutte

à goutte de l'acide chlorhydrique : aucun dégagement de gaz carbonique ne se produit.

Un peu de la culture est additionnée de potasse et portée à l'ébullition. Le papier de tournesol reste rouge au-dessus des vapeurs qui se dégagent. Elles ne renferment donc pas d'ammoniaque.

L'urée n'a pas été transformée en carbonate d'ammoniaque.

La même recherche est faite au bout d'un mois. Elle est pareillement négative.

Culture sur bouillons sucrés. — Peu capable d'attaquer les peptones, le bacille exerce au contraire des modifications sur les sucres.

Nous avons étudié son action sur le glycose et le lévulose, sur le saccharose et le lactose.

Culture sur bouillon glycosé. — A 10 centimètres cubes de bouillon nous ajoutons 0 gr. 2 de glucose. Le tout est porté à 120° dans l'autoclave, puis ensemencé.

Au bout de 24 heures, le bouillon est trouble et un dépôt assez abondant s'est déjà produit dans le fond du tube.

En examinant au microscope on constate la présence d'un très grand nombre de bacilles avec de beaux grains.

En plusieurs endroits de la préparation se voient des amas de corpuscules arrondis, d'un diamètre de 3 μ environ, faiblement colorés par le bleu de Löffler. L'aspect gluant du dépôt qui existe au fond du tube éveille l'idée que ces corpuscules pourraient être constitués par de la mucine. Aussi faisons-nous la recherche chimique de cette substance.

Dans le tube de bouillon glycosé nous laissons tomber goutte à goutte une petite quantité d'acide acétique. L'aspect trouble du bouillon persiste. Ce n'est donc pas de la mucine qui produit ce trouble, car elle aurait été précipitée par l'acide acétique.

Le bacillus punctillatus se développant si abondamment dans le bouillon glycosé, il était intéressant de savoir s'il

attaquait le glycosé et s'il produisait la fermentation acide.

Recherche de l'acidité. — Un peu de teinture de tournesol est mise dans un tube à essai et nous y ajoutons quelques gouttes de notre culture sur bouillon glycosé. La teinture vire au rouge. Il s'est donc produit de l'acide. Quel est cet acide ?

Les anaérobies produisent en général en attaquant les sucres de l'acide lactique. Le bacille ponctillé a bien en effet cette action : la réaction d'Uffelmann le prouve.

Dans un tube à essai, nous ajoutons à une solution très étendue de perchlorure de fer une solution également très étendue d'acide phénique : on obtient ainsi une liqueur violette. A cette liqueur nous ajoutons une petite quantité de bouillon glycosé dans lequel s'est développé le bacille : la coloration violette du réactif disparaît pour faire place à une coloration jaune clair.

Cette décoloration nous prouve la présence d'acide lactique dans le bouillon de culture.

Tout le glucose est-il transformé ? Non, car le bouillon de culture réduit encore énergiquement la liqueur de Fehling.

Le bacille a donc transformé seulement une certaine quantité de glycosé en acide lactique.

Bouillon lévulosé. — A 10 centimètres cubes de bouillon nous ajoutons 0 gr. 2 de lévulose pure. La solution à 2 pour 100 ainsi obtenue est stérilisée par filtration sur bougie de porcelaine, le lévulose se décomposant à la température de 120°.

Le bouillonensemencé et mis à l'étuve se trouble au bout de 24 heures. La présence d'une grande quantité de bacilles est révélée par l'examen au microscope.

Recherche de l'acidité. — Dans cette culture sur bouillon lévulosé nous faisons la recherche de l'acide, comme précédemment, par la teinture de tournesol : mais le résultat est différent, la teinture reste bleue : il n'y a pas d'acide.

Le bacille ponctillé se comporte donc différemment à l'égard du glycosé et du lévulose : il se développe dans les solutions

de l'un et de l'autre. Mais alors qu'avec le glycose il donne de l'acide lactique, avec le lévulose il ne produit pas la fermentation acide.

Culture sur bouillon saccharosé. — Sur bouillon saccharosé le bacillus punctillatus donne d'abondantes cultures.

Ces cultures contiennent de l'acide lactique ainsi qu'en témoigne la réaction d'Uffelmann.

Ce bacille opère-t-il le dédoublement de la saccharose en glucose et lévulose.

Pour le savoir nous avons chauffé une petite quantité de la culture avec de la liqueur de Fehling. Le résultat a été négatif. Il n'y a pas de sucre réducteur dans la culture sur bouillon saccharosé. Il ne semble donc pas que le bacille intervienne le saccharose.

Culture sur bouillon lactosé. — Le bouillon lactosé constitue comme les autres bouillons sucrés précédemment étudiés, un excellent milieu de culture pour le bacille ponctillé qui y végète rigoureusement. Il attaque la lactose et produit de l'acide lactique. Cette notion nous fait prévoir son action sur le lait.

Culture sur le lait. — Du moment qu'il attaque la lactose pour donner de l'acide lactique, le bacille doit coaguler le lait après acidification du milieu, c'est en effet ce qui se produit.

Si onensemence un tube de lait tournesolé avec ce bacille, on voit dès le lendemain que tout le lait est pris en un seul coagulum et que la teinture de tournesol a viré au rouge.

La réaction d'Uffelmann révèle la présence d'acide lactique.

Peptonification de la caséine. — Le bacille coagule la caséine? Son action va-t-elle plus loin et si on la laisse se prolonger plusieurs jours, aboutira-t-elle à la peptonification d'une partie du coagulum de caséine?

S'il en est ainsi, on doit trouver des peptones dans le liquide

qui passe lorsqu'on jette la culture sur un filtre. Ces peptones, la réaction du biuret permet de les déceler.

Nous avons fait cette recherche. Nous avons laissé pendant une semaine le bacille agir sur la caséine. Quand nous avons vu qu'une partie du caillot s'était redissoute, nous avons jeté le tout sur un filtre et au liquide clair obtenu, nous avons ajouté 4 ou 5 gouttes de liqueur de Fehling (1). Il s'est produit une coloration violacée caractéristique de la présence de peptone.

Le bacillus punctillatus peptonifie donc la caséine après l'avoir coagulée.

Essai de culture sur liquide de Raulin. — La grande affinité du bacille pour les sucres, nous a conduit à essayer de le cultiver sur liquide de Raulin.

Toutes les tentatives que nous avons faites en ce sens sont restées sans succès.

Culture sur l'empois d'amidon. — Au contraire nous avons pu facilement le cultiver sur empois d'amidon. Toutefois, sur ce milieu, les bacilles restent grêles et peu nombreux.

Nous avons recherché si, sous l'action du bacille, l'amidon se transformait en glucose. Cette recherche est restée négative, la liqueur de Fehling n'a pas été réduite. Le bacillus punctillatus ne saccharifie pas l'amidon.

Culture sur sérum. — Sur sérum de lapin ou de bœuf, le bacille donne des cultures peu abondantes, mais formées d'éléments de remarquables dimensions.

Culture en présence de l'acide chlorhydrique. — Sur le conseil de notre maître, nous avons cherché à savoir si notre bacille pouvait vivre en présence de l'acide chlorhydrique. Il était intéressant en effet de fixer ce dernier point, dans l'étude biologique d'un microbe retiré de l'estomac.

1. C'est un procédé rapide et excellent pour obtenir la réaction du biuret.

Or, en le faisant passer par des bouillons sucrés de plus en plus concentrés en acide chlorhydrique nous sommes arrivé à obtenir des cultures abondantes jusqu'à la proportion de 1 pour 1000 d'acide. A 2 pour 1000, le bacille croît encore, mais faiblement.

On voit donc qu'il peut très bien prospérer dans un estomac normal où la proportion d'HCl libre n'est certainement pas aussi forte.

Inoculation au lapin du bacille. — La plupart des anaérobies qu'on trouve dans le tube digestif restent sans action si on les injecte dans le sang des animaux.

Le bacillus punctillatus rentre dans cette catégorie. Injecté à des lapins dans la veine de l'oreille, il n'a pas produit de septicémie : les animaux ont continué à se bien porter : les expériences que nous relatons un peu plus loin en font foi.

Sur le conseil de M. Josué et guidé par lui nous avons recherché si ce microbe, hôte du tube digestif, ne serait pas plus dangereux dans le péritoine ou dans les voies biliaires que dans le torrent circulatoire.

Pour cela nous avons inoculé plusieurs lapins l'un dans le cholédoque, les autres dans le péritoine.

Plusieurs moururent : nous rapportons plus loin le détail des expériences. Mais dès maintenant nous croyons devoir dire que, très vraisemblablement, ces morts étaient dues à une cause autre que l'inoculation par le bacille ponctillé. Le moment où nous faisons ces expériences était celui des fortes chaleurs, plusieurs animaux étaient malades : de plus jamais avec le sang de ceux de nos lapins qui succombèrent nous n'avons eu une culture du bacille inoculé.

Il est donc très probable que ce microbe n'est pas pathogène pour le lapin.

Nous donnons les résultats de nos expériences sur les animaux.

EXPÉRIENCES

Lapin n° 1. — Poids, 2.035 gr. *Le 11 juillet.* Cet animal reçoit dans la veine de l'oreille 1 cc. d'une culture de bacille ponctillé sur bouillon âgée de 48 heures.

Le 12 juillet. — Température, 38°2. Poids, 2.020 gr.

Le 13 juillet. — Température, 38°8. Poids, 1.940 gr.

Le 14 juillet. — Température, 38°2. Poids, 2.025 gr.

Les jours suivants l'animal continue d'avoir sa température et son poids normaux.

Lapin n° 2. — Poids, 1.760 gr. — *Expérience faite par M. Josué.*
— *Le 12 juillet.* Reçoit dans le canal cholédoque 1 cc. d'une culture vieille de 48 heures. Une toute petite quantité s'est répandue dans le péritoine.

Le lendemain 13 juillet, l'animal ne pèse plus que 1.410 gr. Sa température est inférieure à 35°, il est à l'agonie.

Il est sacrifié. L'autopsie ne révèle aucune lésion viscérale. Le foie est normal ainsi que ses conduits excréteurs. Le péritoine n'est le siège d'aucune lésion.

Le sang du cœur est examiné au microscope. Cet examen ne permet pas de constater la présence de microbes, le sang est cependant semé dans du bouillon glucosé sous huile et les tubes mis à l'étuve à 37°.

Le lendemain les tubes sont examinés. Tous sont troubles, et le siège d'une abondante production de gaz fétides. L'examen microscopique révèle la présence de plusieurs espèces de microbes, mais le bacille inoculé est absent.

Expériences 3 et 4. — Les deux animaux suivants ont été inoculés l'un dans la veine de l'oreille, l'autre dans le péritoine avec du bouillon de culture provenant d'un même tube.

Lapin n° 3. — Poids 1.820 gr. *Le 1^{er} août.* Reçoit dans la veine de l'oreille 1 cc. de culture de bacille sur bouillon.

Le 2 août. — Température, 38°5. Poids, 1.900 gr.

Les jours suivants température et poids normaux.

Lapin n° 4. — Poids 1.800 gr. Reçoit *le 1^{er} août* dans le péritoine 1 cc. de culture de bacille sur bouillon.

Le 2 août. — Température, 38°6. Poids, 1.725 gr.

Les jours suivants l'animal a de la diarrhée et il meurt le 7 août. A ce moment plusieurs lapins non inoculés mouraient également.

A l'autopsie nous trouvons l'intestin dilaté comme dans tous les cas de diarrhée. Le péritoine n'est le siège d'aucune lésion.

Le sang du cœur est semé sur bouillon glycosé dans trois tubes. Les trois tubes restent stériles.

Cette expérience n'ayant évidemment aucune valeur nous avons attendu que les conditions de température fussent meilleures et nous avons inoculé un 5^e lapin dans le péritoine. Cet animal n'a présenté aucun trouble.

Lapin n° 5. — Poids, 2.100 gr. *Le 22 août.* Reçoit dans le péritoine 1 cc. de culture sur bouillon.

Le 23 août. — Température, 38°7. Poids, 2.150 gr.

Le 24 août. — Température, 39°. Poids, 2.200 gr.

Le lendemain et les jours suivants température normale et variations insignifiantes de poids.

Il semble bien résulter de ces expériences que le bacille ponctillé n'est pathogène ni dans le sang ni dans le péritoine.

Le bacille nous apparaît ainsi comme un parasite inoffensif de l'estomac, capable seulement de contribuer à y produire la fermentation lactique.

Fréquence du bacille dans l'estomac. — Une autre question se pose à son sujet : Existe-t-il dans l'estomac de l'homme d'une façon constante ?

Nos expériences sur ce point n'ont pas été assez nombreuses pour nous permettre de donner une réponse ferme ; tout au plus nous ont-elles fourni une indication ; il semble que le

bacille se rencontre assez fréquemment dans l'estomac de l'homme : en effet, sur 10 vomissements que nous avons semés, 4 contenaient du bacille ponctillé. Cette proportion, si les recherches ultérieures la confirment, devrait faire considérer ce bacille comme un hôte assez ordinaire de l'estomac.

ÉTUDE D'UN DEUXIÈME MICROBE ANAÉROBIE

Le deuxième organisme que nous avons étudié est un microbe de forme ovalaire, de petites dimensions, qui se rencontre très fréquemment dans les cultures anaérobies issues du sang d'un animal en voie de décomposition. Il appartient vraisemblablement à cette classe de microbes encore incomplètement connue qui pendant la vie habitent le tube digestif et dont le passage après la mort dans l'intimité de l'organisme y détermine les phénomènes de la putréfaction. Ce qui nous a décidé à présenter de ce microbe une brève étude c'est que nous l'avons trouvé à l'état de quasi pureté dans les vomissements d'une femme âgée, atteinte d'urémie à forme gastro-intestinale.

Une petite quantité de matière vomie ayant été semée en gélose profonde, suivant la méthode indiquée au début de notre exposition, nous obtinmes une culture presque pure du microbe en question. Il nous suffit de quelques passages pour l'avoir à l'état de parfaite pureté.

Nous avons fait de la morphologie de ce microbe et de ses actions bio-chimiques une brève étude.

Morphologie. — Ce microbe présente un certain polymorphisme.

Dans les cultures en milieu liquide il a la forme d'un petit ovale, un peu plus long que large : ses dimensions sont alors de $1\ \mu$ environ.

Dans les cultures sur milieu solide, les éléments s'allongent jusqu'à avoir une longueur triple de leur largeur et

prennent ainsi l'aspect de bâtonnets aux extrémités effilées, d'une longueur de 2 μ . Toutes les formes intermédiaires entre les deux extrêmes permettent d'ailleurs d'être sûr qu'on a bien affaire au même microbe. Une autre preuve résulte du groupement spécial des colonies dont les éléments se présentent sur la lame en amas serrés et se disposent parallèlement les uns aux autres suivant leur longueur. Cette disposition est identique, différence de longueur mise à part, qu'on ait affaire à une culture sur bouillon ou à une culture en surface.

Colorants. — Ce microbe se colore bien par le bleu de métylène et en général par tous les colorants des microbes.

Il ne se décolore pas par la méthode de Gram.

Etude biologique. — Ce microbe est facultativement aérobie ou anaérobie. La richesse des cultures est sensiblement la même dans les deux cas. Dans les deux cas il peut croître en profondeur et en surface.

Il se développe bien aux températures comprises entre 30° et 37°.

CULTURE SUR DIFFÉRENTS MILIEUX

Gélose. — Il est facile d'obtenir une culture sur gélose inclinée. On a de cette façon une colonie transparente, assez difficile à voir, et qui, à l'examen microscopique, se montre composée d'une très grande quantité d'éléments plus allongés que ceux qui se développent en milieu liquide et effilés à leurs deux extrémités.

Gélatine. — Semé sur gélatine inclinée le microbe donne une culture transparente.

Semé en piqure *il ne liquéfie pas la gélatine.*

Carotte. — Sur la carotte, même aspect transparent des cultures qui ressemblent au premier abord à des gouttelettes de liquide. Mais ces gouttelettes examinées, au microscope, se montrent formées d'un grand nombre de microbes.

Pomme de terre. — Même aspect des cultures que sur la carotte, la difficulté étant plus grande encore d'apercevoir sur la pomme de terre ces petites gouttelettes transparentes.

Artichaut. — Le microbe croît sur l'artichaut : il ne produit pas de pigment vert.

Milieux liquides

Bouillon. — Il trouble le bouillon en moins de 24 heures. C'est au bout de 48 heures que la vitalité de la culture est à son maximum. On obtient des cultures aussi abondantes dans le bouillon à l'air libre que dans le bouillon sous huile ou mis dans l'appareil à hydrogène.

Bouillons sucrés. — Nous avons semé les microbes sur bouillons additionnés de glycose, de saccharose et de lactose dans la proportion de 2 gr. de sucre pour 100 gr. de bouillon.

Il se comporte d'une façon identique à l'égard de ces trois sucres.

Il produit dans les trois cas de l'acide, révélable par le virement au rouge de la teinture de tournesol : cet acide est de l'acide lactique décelable par la réaction d'Uffelmann.

Lait. — Il coagule le lait en formant avec la lactose de l'acide lactique.

La caséine coagulée est redissoute en partie et la réaction du biuret permet de déceler la présence de peptone dans le liquide filtré.

Eau peptonée. — Nous avons semé ce petit microbe sur eau peptonée pure, mais nous n'avons pu réussir à l'y faire croître.

Même résultat négatif avec l'eau peptonée additionnée de glycérine ou de nitrate de potasse. Il nous a donc été impossible de rechercher l'*indol* dans les cultures.

Empois d'amidon. — Il se développe sur l'empois d'amidon. Il ne produit pas de saccharification.

*
* *

Rôle pathogène. — Pas plus que le bacillus punctillatus, le second microbe étudié ne paraît exercer d'action pathogène sur le lapin. L'expérience suivante en fait foi.

Le 23 août. — Un lapin du poids de 1.950 gr. reçoit dans la veine de l'oreille 1 cc. d'une culture de ce microbe en bouillon.

Le lendemain 24 août. — Le poids est de 1.850 gr., la température de 38°5.

Le 25. — Poids 1.870 gr. Temp. 39°.

Les jours suivants, le poids et la température sont normaux.

LEVURE

Dans l'un des tubes de gélose profonde où nous avons trouvé le bacille, nous constatons dès le premier examen l'existence d'un organisme ovalaire de dimensions assez considérables, présentant une grosse granulation centrale fortement colorée par le bleu de Löffler. Examinant une parcelle de la colonie entre lame et lamelle nous ne tardâmes pas à observer les phénomènes de la reproduction par bourgeonnement. Nous nous trouvions donc en présence d'une levure. Cette levure, nous réussîmes assez facilement à l'isoler par passages successifs sur la carotte en laissant vieillir les cultures à la température de la pièce.

L'ayant obtenue à l'état de pureté, nous avons pu étudier la forme, l'aspect de ses cultures sur quelques-uns des milieux ordinaires et son action sur certains sucres.

Milieux solides. — La levure en question pousse bien surtout *sur la carotte*.

Si on promène sur un fragment de carotte stérile un fil de platine chargé d'une parcelle de culture de la levure et qu'on laisse à la température ordinaire, on obtient au bout de 4 ou 5 jours le long de la surfaceensemencée une série de petites traînées et de petits points blancs qui s'étendent peu à peu et se disséminent de proche en proche. Quand la culture est à l'apogée de son développement elle se présente sous l'aspect d'une saillie blanche, un peu jaune par endroits, de consistance crémeuse, bien homogène, entourée d'une série de petites saillies bien arrondies de la même couleur et la

même consistance. Si on prélève une parcelle de cette matière blanche, qu'on la délaye dans une goutte d'eau et qu'on examine au microscope on voit une très grande quantité de cellules ovalaires, à grosses granulations centrales, à petites granulations excentriques, dont plusieurs sont en train de bourgeonner et de donner naissance à des éléments semblables.

Parmi ces cellules, les unes, les plus grandes, atteignent $8\ \mu$ pour leur grand diamètre et 6 pour leur petit. Les moyennes ont $6\ \mu$ sur 4 . Il en est de toutes petites qui n'ont guère plus de $3\ \mu$.

Si on colore au bleu de Löffler, la granulation centrale apparaît en bleu foncé, et le pourtour en bleu clair. Dans cette partie claire, se voient 4 ou 5 petites granulations très foncées.

Si on regarde une préparation non colorée, la granulation centrale apparaît en plus clair ou en plus foncé que la périphérie suivant la position de l'objectif. Cette granulation n'a pas des contours bien réguliers ou tout au moins elle présente des parties plus foncées et des parties plus claires. Dans quelques cas elle paraît double.

L'aspect que nous venons de décrire se retrouve dans les cultures sur les autres milieux solides et liquides.

Sur pomme de terre. — Les cultures, bien qu'un peu moins riches que sur carotte, sont abondantes néanmoins. Elles ont le même aspect blanc tirant légèrement sur le jaune, la même consistance : leur durée est toutefois plus longue. Elles ont encore leur pleine vitalité un mois et demi après l'ensemencement alors que des cultures contemporaines sur carotte sont déjà desséchées.

Sur gélose. — Sur gélose la levure pousse moins abondamment que sur les milieux précédents. La culture au moment de son plus grand développement a l'aspect de stries blanches légèrement surélevées. La gélose n'est pas gélifiée.

Sur gélatine. — Sur gélatine, en surface, les cultures sont moins abondantes encore que sur gélose. Elles se réduisent à quelques points blancs disséminés sur la surface. Si on cultive la levure en la piquant sur godet de gélatine, on n'obtient *pas de liquéfaction*.

Sur artichaut. — La levure pousse sur artichaut et elle y produit du pigment vert. Les colonies, d'abord blanches comme sur les autres milieux, prennent au bout de 5 ou 6 jours une teinte d'abord bleu vert, puis vert foncé et enfin vert presque noir.

Milieux liquides. — Nous avons cultivé la levure dans différents liquides sucrés, bouillon glycosé, liquide de Raulin : nous n'avons *pas observé de formes mycéliennes*. Quelquefois les levures issues d'un même élément restent accolées l'une à l'autre et forment une chaîne de trois ou quatre cellules. D'autres fois elles se disposent en groupes d'une dizaine accolées les unes aux autres dans tous les plans. Mais jamais nous n'avons vu de mycélium vrai. Ce caractère permet de différencier d'une manière certaine la levure que nous décrivons du *saccharomyces albicans*, parasite du muguet.

Fermentation des sucres. — Comme toutes les levures, celle-ci fait fermenter les sucres : nous avons étudié son action sur la saccharose, sur la lactose, sur la glycose. En la faisant agir sur une certaine quantité de ce dernier sucre nous avons pu fabriquer une certaine quantité d'alcool.

Bouillon lactosé. — Un tube de 10 cc. de bouillon lactosé est ensemencé avec la levure.

Au bout de plusieurs jours une petite quantité est prélevée avec une pipette et versée dans un tube contenant un peu de teinture de tournesol. La teinture vire au rouge. Il y a donc de l'acide.

La réaction d'Uffelmann est positive. Cet acide est donc de l'acide lactique.

Liqueur de Raulin. — Nous avons ensemencé un petit

ballon de liquide de Raulin. La levure s'y est développée avec une grande abondance, formant sur le fond du ballon un enduit épais.

Culture en liqueur glycosée et recherche de l'alcool. — Pour étudier la fermentation alcoolique produite par notre levure, nous avons préparé une liqueur glycosée rappelant par sa composition le liquide de Raulin, mais contenant toutefois un nombre beaucoup moins grand de sels minéraux. Voici d'ailleurs la formule de ce liquide :

Eau	700 cc
Glucose	35 gr.
Acide tartarique	2 gr.
Carbonate de potasse	0 gr. 30
Sulfate de fer	0 gr. 02

Dans ce liquide stérilisé à l'autoclave, nous avons semé la levure et avons laissé la fermentation se faire pendant 45 jours après quoi nous avons distillé. Nous avons obtenu ainsi une notable quantité d'une liqueur d'odeur agréable : ce liquide est de l'alcool comme le prouve la réaction suivante.

Dans un verre de montre on ajoute à une solution de bichromate de potasse quelques gouttes d'acide sulfurique, puis on verse une petite quantité de la liqueur à analyser. Il se produit au bout d'un certain temps une coloration verte, caractéristique de l'alcool.

CONCLUSIONS

Nous nous sommes proposé, en commençant ce travail, de continuer une série de recherches commencées par M. le Professeur Roger et par ses élèves sur les microbes anaérobies de l'estomac.

Nous avons isolé trois espèces :

1° Un bacille que nous nommons *bacillus punctillatus* en raison de l'aspect que lui donnent les grains dont il est pourvu.

Ce bacille attaque la saccharose, le lactose et le glycose pour donner de l'acide lactique.

Il coagule le lait et peptonifie la caséine.

Il ne paraît pas produire d'indol.

Il n'est pas pathogène pour le lapin.

2° Un petit bacille polymorphe ovalaire dans les cultures en bouillon, au point de simuler un coccus, allongé dans les cultures sur milieux solides, et qui, comme le précédent, produit la fermentation lactique et peptonifie la caséine. Ce microbe n'est pas pathogène pour le lapin.

3° Une levure ovale donnant des colonies blanches sur milieux solides, ne produisant pas de mycélium dans les bouillons sucrés.

Cette levure attaque les sucres pour donner de l'alcool et de l'acide lactique.

Ces trois microorganismes ont ainsi un point commun, tous trois produisent la fermentation lactique.

En dégageant ces quelques notions, nous espérons avoir atteint le but que nous nous étions proposé : apporter une contribution utile à l'étude de la flore gastrique.

VU :

Le Président de la thèse,
ROGER.

VU :

Le Doyen,
M. DEBOVE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

